

УДК 612.014/.348-02:616.441-008.64-06:612.766.2]-092.9
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9784

О. Є. Любович, І. М. Кліщ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ЛІПІДНОЇ І БІЛКОВОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ В ДИНАМІЦІ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ НА ТЛІ ГІПОТИРЕОЗУ

Вступ. Стрес є відображенням усіх адаптивних реакцій організму, неспецифічних біологічних феноменів, що виникають у відповідь на дію різних подразників і спрямовані на реалізацію пристосувальних механізмів, адаптують організм до стресового впливу. Важливе місце в реалізації адаптивно-пристосувальних реакцій організму посідають гормони щитоподібної залози, які здатні мобілізувати резерви організму для усунення ушкоджень, викликаних дією стресового чинника. Тиреоїдна вісь закономірно втягується в процеси адаптації організму до дії надзвичайних подразників. Однак самі зміни тиреоїдної функції при стресі й адаптації не дозволяють оцінити значення тиреоїдних гормонів у пристосувальних реакціях. Необхідне комплексне дослідження гормонального спектра і стану окисно-відновних процесів в організмі експериментальних тварин зі зміненим тиреоїдним статусом за умов додаткових стресових впливів різної природи.

Мета дослідження – вивчити інтенсивність процесів ліпідної і білкової пероксидації при іммобілізаційному стресі в щурів з експериментальним гіпотиреозом.

Методи дослідження. Гіпотиреоз моделювали, щоденно вводячи тваринам *per os* тиреостатик мерказоліл ("Здоров'я", Україна) у дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби. Гострий іммобілізаційний стрес моделювали шляхом прив'язування піддослідних щурів у положенні на спині за 4 кінцівки без обмеження рухомості голови тривалістю 3 год. Для дослідження концентрації йодовмісних гормонів щитоподібної залози, активності процесів ліпідної і білкової пероксидації використовували спектрофотометричні та імуноферментні методи.

Результати й обговорення. За умов дефіциту йодовмісних гормонів щитоподібної залози активність вільнорадикального окиснення ліпідів і білків була достовірно нижчою, ніж у тварин без змодельованої патології. При дослідженні впливу іммобілізаційного стресу на показники ліпідної і білкової пероксидації встановлено, що на стадії тривоги розвитку стрес-реакції в евтиреоїдних тварин показники пероксидного окиснення ліпідів та білків зростали, що вказувало на посилення активності вільнорадикальних процесів. На стадії резистентності відбувалась стабілізація активності вільнорадикальних процесів. Однак при тривалому стресі (стадія виснаження) активність вільнорадикальних процесів знову достовірно підвищувалась, що свідчило про виснаження захисного резерву антиоксидантної системи. У тварин з гіпотиреозом поступово достовірно зростала інтенсивність процесів ліпідної і білкової пероксидації на всіх стадіях розвитку стрес-реакції з максимумом на стадії виснаження.

Висновок. На тлі гіпотиреозу спостерігають більш інтенсивне, ніж в евтиреоїдних тварин, зростання інтенсивності процесів білкової та ліпідної пероксидації на всіх стадіях розвитку стрес-реакції.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стрес; гіпотиреоз; вільнорадикальне окиснення білків; пероксидне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Стрес є відображенням усіх адаптивних реакцій організму, неспецифічних біологічних феноменів, що виникають у відповідь на дію різних подразників і спрямовані на реалізацію пристосувальних механізмів, адаптують організм до стресового впливу [1]. Важливе місце в реалізації адаптивно-пристосувальних реакцій організму посідають гормони щитоподібної залози, які здатні мобілізувати резерви організму для усунення ушкоджень, викликаних дією стресового чинника [2].

© О. Є. Любович, І. М. Кліщ, 2018.

Однією з важливих і актуальних проблем ендокринної патології в Україні, а особливо на Тернопільщині – в ендемічному регіоні за йододефіцитом, є захворювання щитоподібної залози, зокрема гіпотиреоз [3]. Дуже важливим аспектом дослідження цієї патології стало вивчення особливостей її прояву при підвищених стресових впливах, зважаючи на те, що значна частина населення перебуває в умовах хронічного стресу. Тиреоїдна вісь закономірно втягується в процеси адаптації організму до дії надзвичайних подразників [4, 5]. Однак самі зміни

тиреоїдної функції при стресі й адаптації, як і зміни медіаторної функції при тиреоїдній патології, не дозволяють оцінити значення тиреоїдних гормонів у пристосувальних реакціях. Необхідне комплексне дослідження гормонального спектра і стану окисно-відновних процесів в організмі експериментальних тварин зі зміненим тиреоїдним статусом за умов додаткових стресових впливів різної природи [5, 6].

Мета дослідження – вивчити інтенсивність процесів ліпідної і білкової пероксидації при іммобілізаційному стресі в щурів з експериментальним гіпотиреозом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для вивчення особливостей перебігу стрес-реакції на тлі гіпотиреозу (ГТ) застосовували білих щурів-самців лінії Вістар, яких утримували на стандартному раціоні віварію при вільному доступі до води відповідно до вимог Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин і Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [7, 8]. У кожную експериментальну групу методом випадкової вибірки включено по 10 щурів масою (210 ± 20) г. Усього в дослідженні використано 84 тварини, однак унаслідок загибелі впродовж експерименту на момент евтаназії було 80 щурів.

Гіпотиреоз моделювали, щоденно вводячи тваринам *per os* за допомогою зонда фармакопейний тиреостатик мерказоліл (“Здоров’я”, Україна) у дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби [9]. Повноту досягнення гіпотиреозу контролювали шляхом визначення концентрації трийодтироніну і тироксину в сироватці крові, а також за динамікою маси тварин та їх рухової активності [10].

Вплив гіпотиреозу на перебіг іммобілізаційного стресу вивчали на моделі іммобілізаційного стресу [1]. Гострий іммобілізаційний стрес (ГІС) моделювали шляхом прив’язування піддослідних щурів у положенні на спині за 4 кінцівки без обмеження рухомості голови тривалістю 3 год. Дослідження проводили через 2 (стадія тривоги) та 48 год (стадія резистентності) після завершення дії стресорного фактора. Хронічний іммобілізаційний стрес (ХІС), що є аналогом стадії виснаження, моделювали тим же методом, який повторювали протягом 5-ти діб. Дослідження проводили через 2 год після останнього моделювання.

Експериментальних тварин поділили на 8 груп:

– інтактні тварини, яким перорально вводили дистильовану воду протягом 21-ї доби;

– тварини, яким моделювали гіпотиреоз шляхом перорального введення мерказолілу в дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби;

– тварини, яким моделювали гострий іммобілізаційний стрес і проводили евтаназію на стадії тривоги (2 год);

– тварини, яким моделювали гострий іммобілізаційний стрес і проводили евтаназію на стадії резистентності (48 год);

– тварини, яким моделювали гострий іммобілізаційний стрес на тлі попередньо змодельованого гіпотиреозу (стадія тривоги);

– тварини, яким моделювали гострий іммобілізаційний стрес на тлі попередньо змодельованого гіпотиреозу (стадія резистентності);

– тварини, яким моделювали хронічний іммобілізаційний стрес;

– тварини, яким моделювали хронічний іммобілізаційний стрес на тлі попередньо змодельованого гіпотиреозу.

Для дослідження використовували цільну кров та плазму крові. Тварин декапітували під тіопенталовим наркозом через 2 і 48 год від моменту завершення одноразової іммобілізації та через 2 год від моменту закінчення моделювання хронічного іммобілізаційного стресу.

Вміст загального тироксину (T_4) і загального трийодтироніну (T_3) у сироватці крові визначали імунофлуоресцентним методом із використанням стандартних тест-наборів “Immulite 1000”. Концентрацію гормонів виражали в пмоль/л.

Продукцію активних форм кисню (АФК) у мононуклеарних лейкоцитах визначали методом проточної цитометрії на апараті “Epix XL” (“Beckman Coulter”, США) із застосуванням барвника дихлорфлуоресцеїну діацетату (“Sigma Aldrich”, США). Концентрацію гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) визначали методом, описаним у роботі [11], ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) – за методикою, наведеною в посібнику [12], вміст шиффових основ (ШО) – спектрофотометричним методом [13], альдегідо- і кенопохідних нейтрального (ОМБ₃₇₀) й основного (ОМБ₄₃₀) характеру – за методикою, яку запропонував І. Ф. Мешишен [14].

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel і STATISTICA з використанням параметричних та непараметричних методів оцінки отриманих даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами встановлювали при нормальному розподілі за *t*-критерієм Стюдента, в інших випадках – за допомогою *U*-критерію Манна–Уїтні (достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З метою оцінки функціонального стану щитоподібної залози у тварин, яким моделювали гіпотиреоз, визначали концентрацію тиреоїдних гормонів у крові. Концентрація T_3 у здорових щурів складала $(5,96 \pm 0,22)$ пмоль/л, а у тварин, яким вводили мерказоліл, показник був знижений у 2,7 раза і становив $(2,19 \pm 0,21)$ пмоль/л. Концентрація T_4 в інтактних щурів складала $(10,16 \pm 0,69)$ пмоль/л, а після введення мерказолілу зменшилась у 2,4 раза від показника інтактних тварин і становила $(4,27 \pm 0,28)$ пмоль/л. Ми спостерігали також суб'єктивні ознаки гіпотиреозу: зменшення рухомості, інтенсивніше, ніж в інтактних тварин, зростання маси тіла, зміни шерсті. Це вказує на розвиток у щурів явищ гіпотиреозу внаслідок уведення мерказолілу в дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби.

Дослідження інтенсивності продукування АФК системою фагоцитуючих мононуклеарів крові показало, що в щурів з гіпотиреозом цей процес був достовірно менш інтенсивним, ніж у тварин без змодельованої патології, – показник становив 67,5 % від норми.

Моделювання іммобілізаційного стресу супроводжувалось змінами продукування АФК залежно від стадії стресу. В евтиреоїдних тварин на стадії тривоги спостерігали зростання показника на 38,3 % відносно здорових щурів. На стадії резистентності інтенсивність утворення АФК суттєво знижувалась і показник досягав рівня тварин без патології. Моделювання хронічного стресу (стадія виснаження) призвело до подальшого підвищення досліджуваного показника, яке, однак, було менш вираженим, ніж на стадії тривоги. Показник становив 114,2 % від норми.

Моделювання стресу на тлі гіпотиреозу засвідчило зміни рівня продукування АФК порівняно з евтиреоїдними тваринами залежно від стадії патологічного процесу. На стадії тривоги він хоча й перевищував показник щурів без змодельованої патології, однак був на 33 % нижчим, ніж у тварин з нормальним рівнем йодовмісних гормонів щитоподібної залози на відповідній стадії іммобілізаційного стресу. На стадії резистентності показник АФК достовірно зростав і становив 117,7 % щодо здорових щурів та 115,2 % відносно евтиреоїдних тварин на цій же стадії стресу. Моделювання хронічного іммобілізаційного стресу спричинило ще більше зростання продукування АФК – 121,4 % щодо щурів без патології і 106,2 % відносно евтиреоїдних тварин.

Концентрація ГПЛ у щурів з гіпотиреозом також знижувалась відносно здорових тварин і становила 77,1 %.

Зміни вмісту ГПЛ у евтиреоїдних тварин з іммобілізаційним стресом за динамікою були аналогічними до змін показника АФК – зростання на стадії тривоги до 121 %, нормалізація на стадії резистентності й подальше збільшення на стадії виснаження на 41,1% від норми.

У щурів зі зниженим рівнем йодовмісних гормонів щитоподібної залози зростання концентрації ГПЛ було суттєвішим, ніж в евтиреоїдних тварин, на всіх стадіях стресу. Зокрема, на стадії тривоги показник становив 135,7 % від норми, перевищивши на 12,1 % рівень евтиреоїдних тварин, на стадії резистентності – 129,8 %, що на 26,2 % більше, ніж в евтиреоїдних тварин, на стадії виснаження – 153,1 %, що також на 8,4 % більше, ніж у щурів з нормальним рівнем тиреоїдних гормонів.

Концентрація проміжних продуктів ліпідної пероксидації, які реагують з ТБК-АП, у щурів з гіпотиреозом становила 83,6 % від норми. В евтиреоїдних тварин, яким моделювали іммобілізаційний стрес, на стадії тривоги рівень ТБК-активних продуктів зростав до 127,3 % від показника щурів без патології. Зниження показника на стадії резистентності до 108,8 % змінилось його підвищенням на стадії виснаження до 130 % від норми.

На стадії тривоги в щурів з гіпотиреозом зафіксовано зростання рівня ТБК-АП до 125,8 % від норми, що відповідало показнику евтиреоїдних тварин. Подальше його зниження на стадії резистентності до 112,4 % змінилось суттєвим підвищенням на стадії виснаження – 137,4 % від рівня щурів без змодельованого патологічного процесу і 105,7 % від показника евтиреоїдних тварин на цій стадії стресу.

Найбільших змін зазнав кінцевий продукт ліпідної пероксидації – ШО. Моделювання іммобілізаційного стресу евтиреоїдним тваринам спричинило зростання його рівня на стадії тривоги до 165,8 % від норми. На стадії резистентності показник достовірно знизився, склавши 115,8 %, з подальшим підвищенням на стадії виснаження – 197,4 % від рівня щурів без патології. За умов дефіциту тиреоїдних гормонів зміни були ще більш вираженими. На стадії тривоги показник перевищив рівень щурів без змодельованого патологічного процесу на 76,3 %, причому на стадії резистентності відновлення не відбувалося – 184,2 % від норми, що на 59,1 % вище, ніж в евтиреоїдних тварин. Ще більше зростання зафіксовано на стадії виснаження – 207,9 % від норми, що також вище, ніж у щурів з нормальним вмістом тиреоїдних гормонів (табл. 1).

Одним із важливих процесів для підтримки гомеостазу та корекції інтоксикаційних явищ в

Таблиця 1 – Динаміка показників активних форм кисню та ліпідної пероксидації в щурів з іммобілізаційним стресом на тлі гіпотиреозу ($M \pm m$)

Група тварин		Показник			
		АФК, ум. од.	ГПЛ, ум. од./мл	ТБК-АП, мкмоль/л	ШО, ум. од./г
Без патології, n=12		0,379±0,019	4,90±0,22	4,76±0,34	0,038±0,004
Гіпотиреоз, n=12		0,256±0,016*	3,78±0,26*	3,98±0,09*	0,027±0,002*
Імобілізаційний стрес	ГІС (стадія тривоги), n=10	0,524±0,026*	5,93±0,12*	6,06±0,22*	0,063±0,004*
	ГІС (стадія резистентності), n=10	0,387±0,016	5,04±0,18	5,18±0,36	0,044±0,003
	ХІС (стадія виснаження), n=9	0,433±0,021*	6,92±0,20*	6,19±0,23*	0,075±0,002*
ГТ+ іммобілізаційний стрес	ГІС (стадія тривоги), n=10	0,394±0,025#	6,65±0,33*#	5,99±0,15*	0,067±0,005*
	ГІС (стадія резистентності), n=10	0,446±0,023*#	6,36±0,13*#	5,35±0,30*#	0,070±0,002*#
	ХІС (стадія виснаження), n=7	0,460±0,011*#	7,50±0,19*#	6,54±0,24*#	0,079±0,004*

Примітки. Тут і в таблиці 2:

1. * – зміни показників евтиреоїдних і гіпотиреоїдних тварин з гострим та хронічним стресом достовірні відносно інтактних тварин ($p < 0,05$).

2. # – зміни показників гіпотиреоїдних тварин з гострим і хронічним стресом достовірні відносно показників евтиреоїдних тварин на відповідні доби дослідження ($p < 0,05$).

організмі є система пероксидного окиснення білків. Окиснення білкових молекул під дією активних форм кисню, які накопичуються при патологічних станах, призводить до зміни їх вторинної і третинної структури, агрегації та фрагментації, незворотного uszkodження мембранних структур, порушення їх проникності й загибелі. У зв'язку з особливостями хімічної будови і структурної організації білків, процес окисної модифікації білків має складний характер, що пов'язано з утворенням великої кількості окиснених продуктів радикальної та нерадикальної природи. Відомо, що окисна деструкція білків є одним із перших показників uszkodження тканини. Патогенетична роль продуктів ОМБ зумовлена їх геномо- та цитотоксичністю, спроможністю викликати загибель клітин за типом апоптозу або некрозу.

Проведені дослідження показали, що у тварин з гіпотиреозом концентрація окисномодифікованих білків нейтрального й основного характеру була знижена порівняно зі щурами без змодельованої патології і становила, відповідно, 91,5 та 79,6 % від норми (табл. 2). При моделю-

ванні іммобілізаційного стресу в евтиреоїдних тварин вона збільшувалась, однак залежала від стадії стресу. На стадії тривоги рівень $ОМБ_{370}$ перевищував показник щурів без патології на 14,6 %, а $ОМБ_{430}$ – на 24,1 %. На стадії резистентності показники знижувались і достовірно не перевищували рівня тварин без патології. Подальше зростання концентрації альдегідо- і кетоніохідних нейтрального й основного характеру відбувалось при моделюванні хронічного іммобілізаційного стресу (стадія виснаження). Зокрема, концентрація $ОМБ_{370}$ становила 136,6 % від норми, а $ОМБ_{430}$ – 140,7 %.

У щурів з дефіцитом йодовмісних гормонів щитоподібної залози, яким моделювали іммобілізаційний стрес, на стадії тривоги показники збільшувались менш суттєво, ніж в евтиреоїдних тварин, однак на стадії резистентності вони не відновлювались, а продовжували і далі зростати, становлячи, відповідно, 113,4 ($ОМБ_{370}$) і 127,8 % ($ОМБ_{430}$), що достовірно вище також порівняно з евтиреоїдними тваринами на цій стадії патологічного процесу. На стадії виснаження продовжилось зростання концентрації окисномодифі-

Таблиця 2 – Динаміка вмісту альдегідо- та кетоніохідних нейтрального й основного характеру в плазмі крові щурів з іммобілізаційним стресом на тлі гіпотиреозу ($M \pm m$)

Група тварин		Показник	
		$ОМБ_{370}$, моль/г білка	$ОМБ_{430}$, моль/г білка
Без патології, n=12		0,82±0,11	0,54±0,06
Гіпотиреоз, n=12		0,75±0,09*	0,43±0,05*
Імобілізаційний стрес	ГІС (стадія тривоги), n=10	0,94±0,12*	0,67±0,08*
	ГІС (стадія резистентності), n=10	0,85±0,10	0,59±0,08
	ХІС (стадія виснаження), n=9	1,12±0,11*	0,76±0,11*
ГТ+ іммобілізаційний стрес	ГІС (стадія тривоги), n=10	0,88±0,07#	0,60±0,09*
	ГІС (стадія резистентності), n=10	0,93±0,10*#	0,69±0,10*#
	ХІС (стадія виснаження), n=7	1,31±0,12*#	0,87±0,07*#

кованих білків обох фракцій. Показник $ОМБ_{370}$ становив 159,8 %, а $ОМБ_{430}$ – 161,1 % від норми, перевищуючи рівень евтиреоїдних тварин, відповідно, на 17,1 та 14,5 %.

Однією з причин зростання концентрації окисномодифікованих білків у плазмі крові може бути зменшення активності системи антиоксидантного захисту, особливо ферментів першого ряду, що здатні знешкоджувати активні форми кисню, які і є безпосередньою причиною пероксидного окиснення білків, а також зниження їх елімінації нирками, пов'язане з пригніченням активності лізосомальних гідролаз.

ВИСНОВКИ. 1. Експериментальний гіпотиреоз супроводжується зниженням інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і білків сироватки крові.

2. В евтиреоїдних тварин спостерігають стадійні зміни інтенсивності ліпідної і білкової пероксидації: зростання на стадії тривоги, нормалізацію на стадії резистентності й подальше підвищення на стадії виснаження.

3. У тварин з гіпотиреозом поступово достовірно зростає інтенсивність процесів ліпідної і білкової пероксидації на всіх стадіях розвитку стрес-реакції з максимумом на стадії виснаження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко С. Н. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс / С. Н. Бондаренко, Н. А. Бондаренко, Е. Б. Манухина // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1999. – **128**, № 8. – С. 157–160.
2. Гормональный статус и состояние системы перекисного окисления липидов в ткани мозга крыс при холодовом стрессе на фоне экспериментального гипотиреоза / С. В. Глинин, И. В. Романовский, О. Н. Ринейская [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2007. – № 2. – С. 55–59.
3. Динамика морфологических изменений, показателей антиоксидантной защиты и активности процессов перекисного окисления липидов при экспериментальном гипотиреозе / Д. И. Шакинов, Г. И. Яковенко, А. Д. Шакинов, П. В. Шпис // Вестн. Южно-Казхстанской мед. акад. – 2005. – № 3. – С. 74–76.
4. Данилкина О. П. Физиология стресса животных / О. П. Данилкина ; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2016. – 32 с.
5. Особенности проявления оксидативного стресса при гипотиреозе разной степени тяжести в эксперименте / Ю. Я. Крюк, А. В. Махнева, С. Е. Золотухин, Д. С. Битюков // Патология. – 2011. – **8**, № 2. – С. 62–65.
6. Паєнок О. С. Процеси пероксидного окиснення ліпідів і рівень ендогенної інтоксикації у вагітних із тиреопатіями / О. С. Паєнок, М. О. Костів // Експерим. та клініч. фізіологія та біохімія. – 2012. – № 1. – С. 97–101.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – No. 123. – 52 p.
9. Ром-Бугославська О. С. Доклінічне вивчення тиреостатичних та тиреоїд-стимулюючих засобів / О. С. Ром-Бугославська, Т. С. Божко, І. В. Комарова // Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. – К., 2001. – С. 409–420.
10. Isman C. A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C. A. Isman, B. C. Yegen, I. Alican // J. Endocrinol. – 2003. – **177**, No. 3. – P. 471–476.
11. Колесова О. Е. Пероксидное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
12. Медицинские лабораторные технологии : руководство по клинич. лаб. диагностике : в 2 т. [Электронный ресурс] / В. В. Алексеев ; под ред. А. И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и дополн. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – **2**. – 792 с. – Режим доступа : <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970422748.html>.
13. Хышиктуев Б. С. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение / Б. С. Хышиктуев, Н. А. Хышиктуева, В. Н. Иванов // Клинич. лаб. диагностика. – 1996. – № 3. – С. 13–15.
14. Мешишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мешишен // Буковин. мед. вісн. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156–158.

REFERENCES

1. Bondarenko, S.N., Bondarenko, N.A., & Manukhina, E.B. (1999). Vliyaniye razlichnykh metodik stressirovaniya i adaptatsii na povedencheskiye i somaticheskiye pokazateli u krys [The influence of various stress and adaptation techniques on behavioral and somatic indicators in rats]. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsyny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 128, 8, 157-160 [in Russian].

2. Glynnik, S.V., Romanovskiy, I.V., Rineyskaya, O.N., Kartun, L.V., & Khodosovskaya, Ye.V. (2007). Gormonalnyy status i sostoyaniye sistemy perekisnogo okisleniya lipidov v tkani mozga krys pri kholodovom stresse na fone eksperimentalnogo gipotireoza [Hormonal status and state of the system of lipid peroxidation in the brain tissue of rats under cold stress on the background of experimental hypothyroidism]. *Vestsi NAN Bilorusi. Ser. med.*

navuk – News of NAS of Belarus. Series of Medical Sciences, 2, 55-59 [in Russian].

3. Shakenov, D.I., Yakovenko, G.I., Shakenov, A.D., & Shpis, P.V. (2005). Dinamika morfologicheskikh izmeneniy, pokazateley antioksidantnoy zashchity i aktivnosti protsessov perekisnogo okisleniya lipidov pri eksperimentalnom gipotireoze [Dynamics of morphological changes, indicators of antioxidant protection and activity of lipid peroxidation processes in experimental hypothyroidism]. *Vestnik Yuzhno-Kazakhstanskoy meditsinskoy akademii – Bulletin of the South Kazakhstan Medical Academy*, 3, 74-76 [in Ukrainian].

4. Danylkina, O.P. (2016). *Fiziologiya stressa zhivotnykh [The physiology of animal stress]*. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk. hos. agrar un-t [in Russian].

5. Kriuk, Yu.Ya. (2011). Osoblyvosti vyjavlennia oksydatyvnoho stresu pry hipotireozii riznoho stupenia tiazhkosti v eksperymenty [Features of the manifestation of oxidative stress in hypothyroidism of varying degrees of severity in the experiment]. *Patalohiia – Pathology*, 8, 2, 62-65 [in Ukrainian].

6. Paienok, O.S., & Kostiv, M.O. (2012). Protsesy pereryvnoho okysnennia lipidiv ta riven endogennoi intoksykatsii u vahitnykh z tyreopatiiamy [Processes of peroxide oxidation of lipids and the level of endogenous intoxication in pregnant women with thyropathies]. *Eksperymentalna ta klinichna fiziologhiia ta biokhimiia – Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry*, 1, 97-101 [in Ukrainian].

7. Kozhemyakin, Yu.M., Khromov, O.S., Filonenko, M.A., & Sayfetdinova, G.A. (2002). Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Scientific and practical recommendations for the maintenance and operation of laboratory animals]. Kyiv: Avitsena [in Ukrainian].

8. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific*

purposes (1986). Council of Europe. Strasbourg, 123, 52.

9. Rom-Buhoslavskaya, O.S., Bozhko, T.S., & Komarova, I.V. (2001). *Doklinichne vyvchennia tyreostatychnykh ta tyreoid-stymuliuiuchykh zasobiv. Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv: Metod. rekomendatsii [Pre-clinical study of thyreostatic and thyroid stimulating agents. Pre-clinical research of drugs: Method. recommendations]*. Kyiv [in Ukrainian].

10. Isman, C.A., Yegen, B.C., & Alican, I. (2003). Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis. *J. Endocrinol.*, 177, 3, 471-476.

11. Kolesova, O.E., Markin, A.A., & Fedorova, T.N. (1984). Pereksidnoye okisleniye lipidov i metody opredeleniya produktov lipoperoksidatsii v biologicheskikh sredakh [Peroxide oxidation of lipids and methods for determining the products of lipid peroxidation in biological media]. *Lab. delo – Laboratory Case*, 9, 540-546 [in Russian].

12. Alekseev, V.V. (2013). *Meditsinskiye laboratornyye tekhnologii: rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike: v 2 t. [Medical laboratory technologies: guidelines for clinical laboratory diagnostics: in 2 vol.]*. Karpyschenko, A.I. (Ed.). Moscow: GEOTAR-Media [in Russian].

13. Khyshiktuyev, B.S., Khyshiktuyeva, N.A., & Ivanov, V.N. (1996). Metody opredeleniya produktov perekisnogo okisleniya lipidov v kondensate vydykhaemogo vozdukhа i ikh klinicheskoye znacheniye [Methods for the determination of lipid peroxidation products in the condensate of exhaled air and their clinical significance]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika – Clinical Laboratory Diagnostics*, 3, 13-15 [in Russian].

14. Meshchyshev, I.F. (1998). Metod vyznachennia oksyliuvanoi modyfikatsii bilkiv plazmy (syrovatky) krovi [The method of determination of oxidative modification of plasma proteins (serum)]. *Bukovynskyi med. visnyk – Bukovyna Medical Bulletin*, 2, 1, 156-158 [in Ukrainian].

О. Е. Любович, И. Н. Клищ

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ЛИПИДНОЙ И БЕЛКОВОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ В ДИНАМИКЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА ФОНЕ ГИПОТИРЕОЗА

Резюме

Вступление. Стресс является отражением всех адаптивных реакций организма, неспецифических биологических феноменов, возникающих в ответ на действие различных раздражителей и направленных на реализацию приспособительных механизмов, адаптирующих организм к стрессовому влиянию. Важное место в реализации адаптивно-приспособительных реакций организма занимают гормоны щитовидной железы, которые способны мобилизовать резервы организма для устранения повреждений, вызванных действием стрессового фактора. Тиреоидная ось закономерно вовлекается в процессы адаптации организма к действию чрезвычайных раздражителей. Однако сами изменения тиреоидной функции при стрессе и адаптации не позволяют оценить значение тиреоидных гормонов в приспособительных реакциях. Необходимо комплексное исследование гормонального спектра и состояния окислительно-восстановительных процессов в организме экспериментальных животных с измененным тиреоидным статусом в условиях дополнительных стрессовых воздействий различной природы.

Цель исследования – изучить интенсивность процессов липидной и белковой пероксидации при иммобилизационном стрессе у крыс с экспериментальным гипотиреозом.

Методы исследования. Гипотиреоз моделировали, ежедневно вводя животным *per os* тиреостатик мерказолил ("Здоровье", Украина) в дозе 25 мг/кг в течение 21-х суток. Острый иммобилизационный

стресс моделировали путем привязывания подопытных крыс в положении на спине за 4 конечности без ограничения подвижности головы продолжительностью 3 ч. Для исследования концентрации йодсодержащих гормонов щитовидной железы, активности процессов липидной и белковой перекисидации использовали спектрофотометрические и иммуноферментные методы.

Результаты и обсуждение. В условиях дефицита йодсодержащих гормонов щитовидной железы активность свободнорадикального окисления липидов и белков была достоверно ниже, чем у животных без смоделированной патологии. При исследовании влияния иммобилизационного стресса на показатели липидной и белковой перекисидации установлено, что на стадии тревоги развития стресс-реакции в эутиреоидных животных показатели перекисного окисления липидов и белков возрастали, что указывало на усиление активности свободнорадикальных процессов. На стадии резистентности происходила стабилизация активности свободнорадикальных процессов. Однако при длительном стрессе (стадия истощения) активность свободнорадикальных процессов снова достоверно повышалась, что свидетельствовало об истощении защитного резерва антиоксидантной системы. У животных с гипотиреозом постепенно достоверно возрастала интенсивность процессов липидной и белковой перекисидации на всех стадиях развития стресс-реакции с максимумом на стадии истощения.

Вывод. На фоне гипотиреоза наблюдают более интенсивное, чем у эутиреоидных животных, возрастание интенсивности процессов белковой и липидной перекисидации на всех стадиях развития стресс-реакции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стресс; гипотиреоз; свободнорадикальное окисление белков; перекисное окисление липидов.

O. Ye. Liubovych, I. M. Klishch

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

INTENSITY OF LIPID AND PROTEIN PEROXIDATION PROCESSES IN THE DYNAMICS OF IMMOBILIZATION STRESS ON THE BACKGROUND OF HYPOTHYROIDISM

Summary

Introduction. Stress is a reflection of all adaptive reactions of the body, non-specific biological phenomena that occur in response to various stimuli and aimed at the implementation of adaptive mechanisms that adapt the body to stress effects. An important role in the implementation of adaptive reactions of the body play the hormones of the thyroid gland, which are able to mobilize the body's reserves to repair the damages caused by the action of the stress factor. The thyroid axis is naturally involved in the processes of adaptation of the organism to the action of extreme stimuli. However, the changes in the thyroid gland function under stress and adaptation do not allow us to estimate the value of thyroid hormones in adaptive responses. A comprehensive study of the hormonal spectrum and the state of redox processes in the body of experimental animals with altered thyroid status under conditions of additional stressful effects of various nature is necessary.

The aim of the study – to learn the intensity of lipid and protein peroxidation processes under immobilization stress in rats with experimental hypothyroidism.

Research Methods. Hypothyroidism was simulated by daily per os injection of mercazolilum thyreostatics ("Health", Ukraine) at a dose of 25 mg/kg for 21 days. Acute immobilization stress was simulated by tying experimental rats in a supine position by 4 limbs without limiting the mobility of the head for 3 hours. Spectrophotometric and enzyme immunoassay methods were used to study the concentration of iodine-containing thyroid hormones and the activity of lipid and protein peroxidation processes.

Results and Discussion. It was established that under conditions of deficiency of iodine-containing thyroid hormones, the activity of free radical oxidation of lipids and proteins was significantly lower than in animals without simulated pathology. In the study of the effect of immobilization stress on lipid and protein peroxidation indicators, it was established that at the stage of anxiety of the development of a stress reaction in euthyroid animals, the indicators of lipid and protein peroxidation increase, which indicates an increase in the activity of the free radical processes. At the stage of resistance, stabilization of the activity of free radical processes occurs. However, during prolonged stress (exhaustion stage), the activity of free radical processes increases significantly, which indicates the depletion of the protective reserve of the antioxidant system. In animals with hypothyroidism, there is a gradual significant increase in the intensity of lipid and protein peroxidation processes at all stages of the development of a stress reaction with a maximum at the stage of depletion.

Conclusion. In the setting of hypothyroidism, there is more intense than in euthyroid animals, increase in the intensity of protein and lipid peroxidation processes at all stages of the development of stress response.

KEY WORDS: stress; hypothyroidism; free radical oxidation of proteins; lipid peroxidation.

Отримано 12.11.18

Адреса для листування: І. М. Кліщ, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: klishch@tdmu.edu.ua.